Fernando Joel Tartas

Antecipação de
nodulação na espécie *(Phaseolus vulgaris L.)*

E EFICIÊNCIA SIMBIÓTICA DE ISOLADOS DE RIZÓBIO

Atena
Editora
Ano 2023

Fernando Joel Tartas

Antecipação de
nodulação na espécie *(Phaseolus vulgaris L.)*

E EFICIÊNCIA SIMBIÓTICA DE ISOLADOS DE RIZÓBIO

Atena
Editora
Ano 2023

Editora chefe
Profª Drª Antonella Carvalho de Oliveira
Editora executiva
Natalia Oliveira
Assistente editorial
Flávia Roberta Barão
Bibliotecária
Janaina Ramos
Projeto gráfico
Camila Alves de Cremo
Ellen Andressa Kubisty
Luiza Alves Batista
Nataly Evilin Gayde
Thamires Camili Gayde
Imagens da capa
iStock
Edição de arte
Luiza Alves Batista

CIÊNCIAS AGRÁRIAS

Antecipação de nodulação na espécie (*Phaseolus vulgaris* L.) e eficiência simbiótica de isolados de rizóbio

Diagramação: Thamires Camili Gayde
Correção: Yaiddy Paola Martinez
Indexação: Amanda Kelly da Costa Veiga
Revisão: O autor

Autor: Fernando Joel Tartas

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

T194 Tartas, Fernando Joel
Antecipação de nodulação na espécie (*Phaseolus vulgaris* L.) e eficiência simbiótica de isolados de rizóbio / Fernando Joel Tartas. – Ponta Grossa - PR: Atena, 2023.

Formato: PDF
Requisitos de sistema: Adobe Acrobat Reader
Modo de acesso: World Wide Web
Inclui bibliografia
ISBN 978-65-258-1948-8
DOI: https://doi.org/10.22533/at.ed.488231910

1. Nitrogênio - Fixação. I. Tartas, Fernando Joel. II. Título.

CDD 577.134

Elaborado por Bibliotecária Janaina Ramos – CRB-8/9166

Atena Editora
Ponta Grossa – Paraná – Brasil
Telefone: +55 (42) 3323-5493
www.atenaeditora.com.br
contato@atenaeditora.com.br

DECLARAÇÃO DO AUTOR

O autor desta obra: 1. Atesta não possuir qualquer interesse comercial que constitua um conflito de interesses em relação ao conteúdo publicado; 2. Declara que participou ativamente da construção dos respectivos manuscritos, preferencialmente na: a) Concepção do estudo, e/ou aquisição de dados, e/ou análise e interpretação de dados; b) Elaboração do artigo ou revisão com vistas a tornar o material intelectualmente relevante; c) Aprovação final do manuscrito para submissão.; 3. Certifica que o texto publicado está completamente isento de dados e/ou resultados fraudulentos; 4. Confirma a citação e a referência correta de todos os dados e de interpretações de dados de outras pesquisas; 5. Reconhece ter informado todas as fontes de financiamento recebidas para a consecução da pesquisa; 6. Autoriza a edição da obra, que incluem os registros de ficha catalográfica, ISBN, DOI e demais indexadores, projeto visual e criação de capa, diagramação de miolo, assim como lançamento e divulgação da mesma conforme critérios da Atena Editora.

DECLARAÇÃO DA EDITORA

AGRADECIMENTOS

A Deus, que nos momentos de angústia iluminou minha mente para seguir em frente.

Mãe (*in memoriam*), que sempre me incentivou a estudar, amiga, mãe perfeita.

Pai que mesmo em casa me ajudou em algumas tarefas dos experimentos que levava para casa.

A Irmã Marcia que, de um jeito ou de outro sempre me apoiou e me incentivou.

Ao professor e orientador Julio, que com maestria me orientou de maneira excepcional, tendo paciência para tirar as minhas dúvidas e sempre de bom humor comigo.

Priscila Stocco a quem devo muito por ter me auxiliado nos procedimentos de laboratório e esclarecendo todas as dúvidas possíveis que eu poderia ter apresentado.

Aos amigos Silmar, Everton, Adilson, que sempre quando precisei, não exaltaram em esclarecer métodos, procedimentos e todo tipo de dúvida que surgia.

Katheleen, Marília, Ana, Rafaela, Julia, sempre dispostas em me apoiar nas análises laboratoriais e até mesmo nos trabalhos de campo.

A Namorada Luana, que mesmo entrando em minha vida no final dessa caminhada, teve papel importantíssimo na minha preparação, me incentivando sempre.

Esse projeto teve como objetivo pesquisar a existência de estirpes de rizóbios nativos que promovam a antecipação da formação de nódulos capazes de fixar o nitrogênio livre da atmosfera, e, com isso, reduzam a utilização de fertilizantes nitrogenados na cultura de feijão. Para sua efetivação, o presente estudo foi dividido em dois experimentos, ambos conduzidos no município de Lages, no Estado de Santa Catarina, sob condições distintas no que se referem aos fatores abióticos. Os tratamentos testados foram resultantes da combinação de 6 (seis) níveis do fator inoculação e 7 (sete) níveis do fator genótipo de feijoeiro, previamente avaliados quanto à diversidade genética do banco de Germoplasma do Centro de Ciências Agroveterinárias, e uma estirpe comercial recomendada, obtendo-se um controle sem a aplicação de nitrogênio e um controle com aplicação desse nutriente, perfazendo um total de 42 tratamentos. Foi realizada a avaliação de diversos aspectos, tais como número de nódulos, massa seca de nódulos, massa seca da parte aérea e teor de nitrogênio. Os resultados foram submetidos à análise de variância, onde constatou-se diferença significativa de alguns tratamentos com relação à Massa Seca da Parte Aérea (MSPA), provavelmente pela especificidade da planta hospedeira com a estirpe. Algumas estirpes combinadas com genótipos tendem a formar nódulos precocemente, aumentando o tempo de fixação de N. O número de nódulos não influenciou na MSPA. A nodulação das plantas de feijoeiro, que não foram inoculadas nem receberam aplicação de N mineral (testemunha absoluta) foi semelhante à dos demais tratamentos no segundo experimento, evidenciando a existência de elevada população nativa de rizóbios simbiontes na cultura do feijoeiro. Ainda, observou-se que a bactéria B2 teve uma maior influência em relação às outras bactérias testadas.

Palavras-chave: Fixação Biológica de Nitrogênio. *Phaseolus vulgaris* L. Antecipação de Nodulação.

ABSTRACT

The objective of this project was to investigate the existence of native rhizobia strains that promote the anticipation of the formation of nodules capable of fixing the available nitrogen from the atmosphere, and thereby reduce the use of nitrogenous fertilizers in bean crops. In order to accomplish the objective of the present study, this one was divided into two experiments, both in the Lages city, Santa Catarina State, under different abiotic conditions. The treatments consisted of the combination of six levels of factor inoculation within seven levels of factor bean genotype (a total of 42 treatments). Six of the seven rhizobia strains tested were previously evaluated as to genetic diversity from Germplasm bank of the Agronomy and Veterinary Science Center, the seventh is a recommended commercial strain. Among the treatments, there is a control without the use of nitrogen, and a control with application of this nutrient. It was performed the evaluation of various aspects, such as number of nodules, nodules dry weight, shoot dry weight and nitrogen content. The results were submitted to analysis of variance. Significant difference was found a few treatments with regard to shoot dry weight (SDW), probably due to the specificity of interaction between the host plant and the rhizobia strain. Some strains with genotypes combinations tend to form nodules earlier, increasing the nitrogen fixing time. The number of nodules had no effect on SDW. The nodulation of bean plants, which were not inoculated or received mineral N application (absolute control) was similar to the other treatments in one of both experiment carried, showing the existence of high native population of bean rhizobia symbionts. Furthermore, it was observed that the bacteria B2 had a greater influence comparing to the others bacteria tested.

Keywords: Biological Nitrogen Fixation. *Phaseolus vulgaris* L. Nodulation Anticipation.

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO

Diante do cenário nacional atual de produção de feijão, nos deparamos com muitas dificuldades apresentadas pelos agricultores, principalmente com relação ao nível tecnológico empregado, fazendo a diferença na produtividade alcançada. O Brasil ocupa a terceira posição na produção mundial de feijão, atrás do Myanmar e da Índia. (EPAGRI/CEPA, 2014). Alternativas que possam aumentar a produtividade de forma sustentável devem ser preconizadas, tais como a redução do uso de fertilizantes nitrogenados pela adoção da fixação biológica de nitrogênio. (PERES, 2014).

O crescimento no consumo, cerca de 1,22% ao ano, no período 2009/2010 a 2019/2020, passando de 3,7 milhões de toneladas para 4,31 milhões de toneladas. As projeções indicam também a possibilidade de importação de feijão nos próximos anos. Porém, a taxa equivaleria a 161,3 mil toneladas em 2019/2020, quantidade pouco expressiva. (MAPA, 2015).

O uso de insumos sintéticos esgotam nossos recursos naturais que na maioria das vezes não são renováveis, como é o caso de alguns fertilizantes e as fontes de petróleo. Além disso, muitos desses insumos contaminam nossas águas impossibilitando seu consumo. Em virtude disso, temos a responsabilidade de criar novas ferramentas ou aprimorar as já existentes no campo da biotecnologia, para enfrentar limites encontrados na produção de alimentos.

A tecnologia de inoculação com bactérias fixadoras de N é uma técnica promissora, porém muito pouco utilizada no feijoeiro, em relação a soja. Comparando-se com as produtividades de milho, arroz e soja, constata-se que a cultura do feijão possui o menor rendimento por unidade de área (CRUSCIOLI, 2003).

Entre os principais fatores limitantes da produtividade da cultura do feijoeiro no País, destacam-se aqueles relacionados ao baixo nível técnico empregado pelos produtores e ao cultivo do feijoeiro em solos de baixa fertilidade, especialmente pobres em Nitrogênio (CABALLERO *et al.*, 1985). Por outro lado, estudos mostram que é possível que essa cultura se beneficiar, em condições de campo, do processo de fixação biológica de N_2, podendo alcançar produtividade acima de 2.500 kg ha^{-1} (HUNGRIA *et al.*, 2000).

As bactérias promotoras de crescimento (ou PGPB-Plant Grownt Promoting Bacteria), formam um grupo benéfico e heterogêneo de microrganismos que podem ser encontrados na rizosfera, superfície de raízes ou em associação com as mesmas. (PONTES,2014). As PGPB, são capazes de fixar nutrientes como Nitrogênio (JUNIOR *et. al*, 2015).

O ciclo do feijão em geral é muito curto em relação a outras culturas. Segundo VARGAS *et al.*, (1982), o início da nodulação no feijão comum ocorre aos sete dias após a emergência e, na soja, ocorre na segunda semana após o plantio. Então qualquer antecipação, por mais breve que seja de nodulação e fixação de N pela planta, aumentará a eficiência do processo, podendo resultar em maior acúmulo de nitrogênio na planta e

consequentemente maior produtividade com menor necessidade de uso de fertilizantes químicos.

1.1 HIPÓTESES

- Existem genótipos nativos de rizóbios nodulantes no feijoeiro e genótipos crioulos de feijão que, combinados, podem promover a antecipação de nodulação;
- A antecipação de nodulação pode representar ganhos no acúmulo de N no feijoeiro pela fixação de Nitrogênio.

1.2 OBJETIVOS

1.2.1 Objetivo Geral

Avaliar o efeito da interação de diferentes genótipos de bactérias diazotróficas nodulantes, em acessos crioulos e comerciais de feijoeiro, com relação à precocidade de nodulação e acúmulo de N na planta.

1.2.2 Objetivos Específicos

-Avaliar a capacidade de estirpes nativas em antecipar a nodulação no feijoeiro;
-Avaliar a capacidade de genótipos crioulos de feijoeiro em antecipar a nodulação;
-Avaliar a eficiência de fixação de N de estirpes nativas de rizóbios e genótipos crioulos de feijoeiro.

REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 A CULTURA DO FEIJOEIRO

Cultivado por pequenos e grandes produtores, em diversificados sistemas de produção e em todas as regiões brasileiras, a cultura do feijoeiro comum reveste-se de grande importância econômica e social para o Brasil (EMBRAPA, 2003).

Embora tenha ocorrido uma redução no consumo nos últimos anos, o feijão comum (*Phaseolus vulgaris* L.) ainda é um importante alimento na dieta da população brasileira, sendo considerado a base da alimentação nacional junto com o arroz.

Porém o feijão ocupava o terceiro lugar entre os alimentos mais consumidos e totalizava 11,2% das quilocalorias ingeridas por dia no Brasil em 1996, (SOARES, 1996), mas houve alteração nesse quadro para o Brasil nos anos seguintes, porém ainda assim, continua a ter grande valor como fonte proteica na alimentação do brasileiro. Possui uma composição química que torna o seu consumo benéfico sob o ponto de vista nutricional, possuindo também compostos fenólicos que podem reduzir a incidência de doenças (DINELLI *et al*., 2006; BENINGER e HOSFIELD, 2003).

Como é uma fonte básica de proteína e carboidratos para grande parcela da população brasileira e tem produção oriunda em grande parte da agricultura familiar (65%), a cultura do feijão tem forte apelo social e econômico, com interesse exclusivamente no mercado interno, já que o Brasil é o maior produtor e consumidor desta leguminosa no mundo (EPAGRI, 2012).

Considerando a diversidade fisiográfica do País e a adaptação do feijoeiro a diversas condições de solo e clima, é possível explorar a cultura praticamente em todo o país. Mas tendo em vista essa variedade climática e a fertilidade diferente dos solos brasileiros, a dificuldade de se obter tecnologias que se adaptem em todos os ambientes é grande.

Os produtores mais capitalizados adotam o uso de tecnologia avançada comercializando grandes quantidades, e obtendo melhores preços, o que os torna menos sujeitos a ação de intermediários e especuladores. (FUSCALDI & PRADO, 2005). Em 2013 Santa Catarina foi destaque na produção de feijão, com volume anual de 101,340 t somente na primeira safra, ficando apenas atrás do estado de São Paulo. (IBGE, 2013). E na safra 2014/2015 teve um rendimento médio de 3,546 Kg/ha, porém com produtividade abaixo da safra de 2013/2014. (EPAGRI, 2015).

No entanto, grande parte da produção brasileira está ligada a pequenas e médias propriedades, em geral, produtores que utilizam mão de obra familiar com baixo nível tecnológico, sendo estes responsáveis por grande parte da produção nacional, mas com menores produtividades. (EMBRAPA, 2012). O alto custo dos fertilizantes limita o uso desses recursos por esses agricultores, já que o feijão é uma planta com alta exigência nutricional como o nitrogênio. No entanto o feijão preto tem uma participação de 76,2% da agricultura familiar (CONAB, 2013).

No Brasil, há um enorme contraste nos sistemas de produção utilizados para o cultivo do feijão. De uma lado está o agricultor familiar, que não utilizam práticas adequadas de cultivo e reutilizam os grãos colhidos como sementes por várias gerações. No extremo oposto, estão produtores rurais que cultivam o feijoeiro em grandes áreas sob irrigação e adotam todas as tecnologias disponíveis (MESQUITA, 2005).

Para ORTEGA (2002), a modernização a qual foi submetida a agropecuária brasileira se deu de forma parcial deixando de fora amplos segmentos dos agricultores, principalmente os familiares. Na última década essa realidade mudou em termos de mecanização, mas o uso de tecnologias como a inoculação do feijoeiro com rizóbio andou em sentido contrário, provavelmente porque falta a canalização de esforços da pesquisa e extensão no sentido de mostrar a importância do seu uso. Desse modo, faz-se necessário novos estudos e ferramentas de manejos que possibilitem aumentar as vantagens ao sistema produtivo dessa cultura, como também aperfeiçoar a seleção de cultivares adaptadas às condições diversas de forma a otimizar os recursos existentes e alcançar rendimento e renda satisfatórios para o produtor.

2.2 IMPORTÂNCIA DO NITROGÊNIO PARA AS PLANTAS

Nutriente de importância fundamental para todos os seres vivos, o nitrogênio (N) pode ser tão limitante quanto a água para o crescimento e a produtividade das culturas. Empregado em grandes quantidades na agricultura moderna na forma de fertilizantes químicos sintéticos, e para a maior parte das culturas representa o nutriente de custo mais elevado. É o quarto elemento mais abundante nas plantas, sendo superado apenas pelo carbono, oxigênio e hidrogênio. É constituinte essencial de aminoácidos, proteínas e bases nitrogenadas, ácidos nucleicos, hormônios e clorofila entre outras moléculas. (FIGUEIREDO, 2008).

Na natureza o principal repositório de nitrogênio é a atmosfera. Embora parte (78%) da composição da atmosfera terrestre seja representada pelo nitrogênio na forma de gás Nitrogênio (N_2), esse imenso compartimento não está disponível para a maioria dos vegetais (FIGUEIREDO, 2008).

A exceção se deve a alguns microrganismos capazes de assimilarem o nitrogênio atmosférico que se apresenta na forma gasosa, para formas combinadas, já que a forma atmosférica não está disponível de forma simples às plantas (MOREIRA & SIQUEIRA, 2006).

Além do alto custo econômico, o uso de fertilizantes nitrogenados em solos tropicais tem ainda um custo ambiental adicional. Considera-se que as perdas de adubos nitrogenados aplicados estão em torno de 50% sendo ocasionadas principalmente por lixiviação, na forma de nitrato e escorrimento superficial provocado pela água das chuvas ou irrigação (PELEGRIN *et al.,* 2002), e quando transferido de um ecossistema para outro

pode tornar-se um poluente (GROFFMAN, 2000).

2.3 FIXAÇÃO BIOLÓGICA DE NITROGÊNIO

A maior parte do nitrogênio, cerca de 94 %, está imobilizado na crosta terrestre; quase todo o restante está na atmosfera, indisponível para a maior parte dos organismos vivos. Apenas os microrganismos capazes de sintetizar a enzima nitrogenases podem transformar o nitrogênio atmosférico (N2) em NH3, forma nitrogenada prontamente assimilável para as plantas e outros organismos. A esse processo, dá-se o nome de fixação biológica de nitrogênio (FBN). (EMBRAPA, 2015).

As bactérias conhecidas como rizóbios têm a capacidade de induzir a formação de nódulos e fixar o N_2 em raízes e caules de leguminosas e possuem papel importante na agricultura sustentável (FREITAS, 2007).

Gêneros de bactérias fixadoras de N como: *Rhizobium, Sinorhizobium, Azorhizobium,* apresentam alta diversidade morfológica, fisiológica, genética e filogenética. Várias espécies novas de *Rhizobium, Bradyrhizobium, Mesorhizobium, Azorhizobium* e *Sinorhizobium*, vêm sendo descritas nos últimos anos, além da descoberta de outros gêneros de bactérias como: *Methylobacterium*, (Sy et al.,2001); *Burkholderia*, (Moulin *et al.*, 2001) entre outras (BARBIERI, 2007).

O processo de fixação biológica de nitrogênio induzido tem a capacidade de complementar ou até mesmo substituir a adubação nitrogenada auxiliando no aumento da produção e consequentemente redução dos custos produtivos, diminuindo os impactos ambientais, melhorando a qualidade do solo contribuindo para a sustentabilidade, já que toneladas de fertilizantes nitrogenados deixarão de ser produzidos.

Muitos contestam a baixa produtividade vinculada ao fenômeno de associação mutualística entre leguminosas e estirpes bacterianas, mas com estudos direcionados bem específicos para cada caso, há grande possibilidade de um ótimo aproveitamento dessas ferramentas naturais. Entretanto, essas tecnologias são muito difíceis de serem compreendidas, pois afinal, são microrganismos, seres vivos que tem suas preferências e se adaptam diferencialmente a determinados microambientes, temperatura, acidez entre outros.

Durante as diferentes etapas da simbiose entre leguminosas e rizóbios, diversos genes de plantas codificam proteínas chamadas nodulinas, que são classificadas em precoces e tardias. (VERMA *et al.*,1992). A expressão das nodulinas tardias, que participam da troca metabólica entre a planta e o microssimbionte coincide com o início da fixação de nitrogênio, que é acionada pela nitrogenase expressa no rizóbio (Schroder *et al.*, 1997). Entretanto, o suprimento de N através da adubação mineral afeta o processo de FBN em leguminosas, uma vez que as plantas podem absorver diretamente o N presente no solo (OLIVEIRA *et al.*, 2004). Por outro lado, o processo pode ocorrer com eficiência

em condições de baixa disponibilidade de N no solo (FRANCO & NEVES, 1992), e há recomendações de uso de pequenas doses de N aplicadas na semeadura (HUNGRIA *et al*., 1994) em situações particulares, que pode melhorar o crescimento das plantas e apresentar um efeito sinergístico sobre a nodulação (TSAI *et al*., 1993).

Quanto a precocidade de nodulação, esta pode não ser eficiente do ponto de vista funcional. A inoculação do feijão-caupi com estirpes eficientes não resulta necessariamente em aumento de rendimento. Uma das razões para o fracasso da inoculação, é que existem diferenças na especificidade simbiótica entre cultivares de feijão-caupi e estirpes de *Bradyrhizobium* (XAVIER *et al*., 2006). Ainda há o fator de que na grande maioria das vezes as estirpes inoculadas encontram dificuldade na competição com a população nativa, por sítios de nodulação das raízes. Nos solos brasileiros pode ser constatada população nativa de *Rhizobium* com grande habilidade em nodular o feijoeiro, contudo com reduzida eficiência quanto à FBN (EMBRAPA 2012).

Existe um consenso geral de que o genótipo da planta é um fator chave para obtenção dos benefícios propiciados por bactérias diazotróficas endofíticas (REIS *et al.,* 2000). MIRANDA *et al.,* (1990), utilizando 24 genótipos de *Panicum maximum*, demonstraram que as plantas diferiam quanto à capacidade de obter N pela fixação biológica, provavelmente, devido a diferenças dos genótipos na capacidade de associação com bactérias diazotróficas. (BHATTARAI & HESS 1998).

A tecnologia de inoculação de sementes de feijão é quase que totalmente desconhecida pelos produtores e não é utilizada na maioria, e a maior parte dos trabalhos de seleção de estirpes é voltada para o mercado da soja. (MOREIRA e SIQUEIRA, 2008).

MATERIAL E MÉTODOS

A pesquisa foi conduzida em Lages, Santa Catarina. O município apresenta uma latitude de 27º 48' 58" S e uma longitude é de 50º 19' 34" W, com altitude aproximada de 935 m acima do nível do mar e com índice pluviométrico anual por volta de 1.700 mm (SANTA CATARINA, 1986). A temperatura média anual varia de 13,8ºC e 15,8ºC (EPAGRI, 1998). Segundo a classificação climática de Köppen-Geiger o clima da região é do tipo Cfb (KOTTEK *et al*, 2006), que apresenta clima temperado úmido, sem uma estação de secas e com verões quentes.

O projeto constou de dois experimentos. O primeiro em câmara de crescimento e o segundo em casa de vegetação, como no seguinte exposto.

3.1 EXPERIMENTO 1

O experimento foi conduzido na câmara de crescimento da EPAGRI-Lages, com controle de temperatura na faixa de 25ºC e iluminação artificial, e foi desenvolvido em substrato esterilizado.

O trabalho iniciou pela escolha de 5 genótipos de feijoeiro crioulo comum do Banco Ativo de Germoplasma de Feijão do CAV (BAF), e duas variedades comerciais, num total 7 genótipos de feijoeiro com ciclos contrastantes de 70 a 90 dias conforme tabela 01. O propósito foi estudar a relação simbiótica entre bactérias nativas fixadoras de N atmosférico, no que diz respeito à antecipação de nodulação e eficiência simbiótica, avaliando o efeito da interação de diferentes genótipos de bactérias diazotróficas com acessos crioulos e comerciais de feijoeiro, com relação à precocidade de nodulação e acúmulo de N na planta, em condições axênicas.

As estirpes bacterianas utilizadas foram coletadas na região de Urupema (Figura 01), por se tratar de um local sem histórico de inoculação, já que o proprietário afirma que nunca houve processo de tratamento de sementes lá cultivadas. O local de coleta situa-se na área rural deste município com latitude 27º 54' S e longitude 49º 47'W com clima subtropical de altitude, e temperatura média anual em torno de 12.5ºC. (IBGE 2002). Segundo a Köppen e Geiger o clima é classificado como Cfb. A temperatura média anual em Urupema é 14.1 °C. A média anual de pluviosidade é de 1634 mm.



Figura 1. Área localizada na zona rural da cidade de Urupema, onde foram coletados os nódulos para isolamento.

Fonte: Fundação Grupo Boticário. Urupema, 2013.

Foram selecionados dez nódulos coletados das raízes de feijoeiro desta área. Todos colhidos de forma aleatória de forma a não ter indícios ou induções que puderam levar a ser selecionados nódulos melhores e maiores, pois a pequena plantação desta propriedade é de área rural e o solo tratado com adubo orgânico sem muitas melhorias, mantendo as características naturais do terreno. Isso contribui para eliminar erros posteriores que possam afetar a escolha das culturas já que todas as bactérias colhidas são nativas. Esses nódulos foram submetidos a um processo de desinfecção, onde foram mergulhados em álcool 70% (1min.) e hipoclorito de sódio (2,5%) (5min), seguida de cinco lavagens com água destilada e esterilizada. Esse processo minimiza ao máximo a eventualidade de cultivarmos uma bactéria que esteja fora do nódulo e não no seu interior. Isso causaria um falso resultado, pois nem sempre a bactéria n interior do nódulo é a mesma do seu lado externo.

*BAF	Origem da coleção	Nome Comum	Ciclo	Cor
44	Capão Alto (SC)	Vagem Branca	90	Preto
112	IAPAR (PR)	IPR-88 Uirapurú	75	Preto
102	Goiânia CNPAF (GO)	México 309	70	Preto
36	São José do Cerrito (SC)	Rasga	85	Preto
50	Lebon Régis (SC)	Carioca Brilhante	85	Carioca
121	IAPAR (PR)	IAPAR 81	75	Carioca
55	Cunha Porã (SC)	Preto	80	Preto

Tabela 1. Genótipos evariedades de feijoeiro.(Phaseolus vulgarisL.) selecionadas para o experimento, fornecidas pelo banco de sementes do CAV, indicando a origem,e as características culturais.

*BAF= Número da coleção no banco de Germoplasma do CAV-UDESC, Santa Catarina, Brasil.

BAFs: 112 = Uirapuru e 121 Iapar; 81, são cultivares comerciais.

A câmara de crescimento onde o experimento foi conduzido é isolada, com temperatura, e umidade constantes, além da iluminação artificial com lâmpadas de vapor de sódio e fluorescentes, simulando o foto-período natural, com incidência de luz por doze horas e fase escura, doze horas.

Os recipientes para o plantio foram copos plásticos descartáveis novos, de 500 mL, previamente sanitizados com álcool.

O substrato utilizado constituiu-se de areia média lavada para a remoção do excesso de impurezas, adicionada com 20% de vermiculita expandida, sendo esse material esterilizado em autoclave por 60 minutos a temperatura de 121Cº.

A desinfecção das sementes antes do plantio foi feita mergulhando as mesmas em álcool 70% (1min.) e hipoclorito de sódio (2,5%) (5min), seguida de cinco lavagens com água esterilizada para a remoção de possíveis resíduos da limpeza das sementes.

As bactérias selecionadas para o experimento foram colocadas para crescer em meio levedura manitol, por três dias em incubadora orbital, com controle de temperatura, até formar uma solução turva, indicativo visual de um bom crescimento bacteriano. Feito isso, esse caldo foi inoculado em meio YMA (VINCENT, 1970), e feito o isolamento e obtenção de culturas puras de bactérias em meio. As estirpes foram caracterizadas quanto à produção de muco, transparência, cor, tamanho, borda, elevação e crescimento, aos três e cinco dias de crescimento (VINCENT, 1970). Também foi observada, a partir do quinto dia de crescimento, a acidificação ou alcalinização do meio YMA modificado, que continha o indicador de pH azul de bromotimol (VINCENT, 1970), e Vermelho Congo em placas de Petry, e colocados na BOD para crescimento com temperatura de 28ºC.

Depois de isoladas as colônias, procedeu-se à descrição das mesmas, baseando-se nas seguintes características: taxa de crescimento, medida pelo tempo de aparecimento de colônias isoladas (rápido: 2 a 3 dias; intermediário: 4 a 5 dias; lento: 6 a 10); diâmetro médio das colônias isoladas (< 1mm, 1 a 2 mm e > 2 mm); modificação do pH do meio, em meio de cultura azul de bromotimol, produção de goma (baixa, média e alta) e coloração das colônias (SOARES et al., 2006)

Como existem estirpes de crescimento rápido e de crescimento lento, observou-se a formação de colônias dia a dia, para a definição suas características morfofisiológicas. A partir destas características foram escolhidas as estirpes que mais se desenvolveram e assumiram características que pudessem levar a produção de um inoculante para o experimento. Na tabela abaixo, estão ordenadas as bactérias que fizeram parte da produção de placas de Petry, e que após essa produção, com base em suas características, foram selecionadas três que foram , devidamente identificadas e armazenadas em local refrigerado para posterior multiplicação em forma de inoculante líquido, e o restante descartado como mostra a tabela 2.

Cód	Forma	Transpar.	Elevaç.	Dm	Taxa.cresc.	Borda	pH*	Goma
B1	P	T	Cx	1	R	L	N	+
B3	P	T	Cx	2	R	L	A	+
B5	C	O	Cx	2	R	L	A	++
B6	C	O	Cx	5	R	L	A	++
B7	C	O	Cx	3	R	L	A	++
B8	C	T	Cx	3	R	L	A	++
B9	C	O	Cx	3	R	I	B	++
B10	C	T	Cx	2	R	L	N	++

Tabela 2. Características morfofisiológicas dos Isolados bacterianos nodulantes em feijoeiro selecionados a partir de plantas isca de feijão.

B* Símbolo dado ao nódulo do feijão selecionado aleatoriamente.

****pH Corante azul bromotimol**

F-Forma C-Circular P-Puntiforme I-Irregular, **Tr-Transparência** O-Opaca T-Translucida **E-Elevação** Cc Côncava Cx-Convexa Cn-Cônica A-Achatada **Dm -Diâmetro médio das colônias em mm. TX-Taxa de crescimento** R-Rápido (até três dias) L-Lento (de três a sete dias). **B-Borda** L-Lisa I- Irregular**. pH-Alteração do pH** A-Ácido B-Básico,N-Neutro, com 3 e 7 dias. **M-Produção de goma** M+ -Não produz fio M++ -Produz pouco fio M+++ Produz muita goma M++++-Produz fio muito abundante a ponto de escorrer na placa.

Das dez estirpes colocadas para crescimento, foram selecionadas três, por chamar a atenção para características de *Rizhobium,* pois estas são fixadoras de nitrogênio em leguminosas. As estirpes sofreram processos de seleção segundo (FARIA, 2003).

Foram observadas forma, transparência, elevação da colônia, tamanho da colônia, produção de muco, opacidade, tempo de crescimento. As estirpes selecionadas foram nomeadas provisoriamente de B1, B2 e B3.Uma quarta estirpe de origem comercial *Rizhobium tropici,* foi incluída no experimento para possível comparação com as nativas e controles. Foram incluídos um controle absoluto, e outro controle sem inoculação e com adição de N. Todas essas 6 variantes foram atribuídas (inoculadas ou não) há sete variedades de feijoeiro citadas anteriormente totalizando 42 tratamentos. O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado, e os tratamentos testados são resultantes da combinação de 6 níveis do fator inoculação e 7 níveis do fator genótipo de feijoeiro, perfazendo um total de 42 tratamentos, com 16 repetições, totalizando 672 unidades amostrais.

O inoculante sólido turfoso utilizado contém a estirpe comercial *Rhizobium tropici*, estirpe SEMIA 4080, com garantia de concentração de $2x10^{9}$ufc/g$^{-1.}$ Em seguida foram colocadas duas sementes em cada vaso, e inoculado 1mL do produto por semente. Aos três (dias após a emergência, DAE), foi realizado o desbaste deixando-se uma planta por vaso. As plantas permaneceram na câmara de crescimento e foram regadas diariamente com água destilada e autoclavada, tomando cuidado para que todos os vasos recebessem

a mesma quantidade de água, e uma vez por semana, regadas com solução nutritiva livre de N (SOMASERAGAN & HOBEN,1985).

Aos 5 DAE foi iniciada a retirada das plantas,uma por tratamento, verificando-se a existência ou ausência de nódulos radiculares. As últimas seis repetições foram colhidas após 35 dias e armazenadas para efetuar as análises como: Massa seca de nódulos, (MSN) número de nódulos, (NN) massa seca da parte aérea, (MSPA) teor de nitrogênio acumulado (N Total) e cálculo da eficiência simbiótica relativa. Os resultados foram submetidos à análise de variância, e o programa utilizado foi o Statisoft Statistic v7.2011.



Figura 2. Vasos esterilizados, instalados com substrato (areia+vermiculita) autoclavados, prontos para a semeadura.

Fonte: O próprio autor. Lages, 2014.

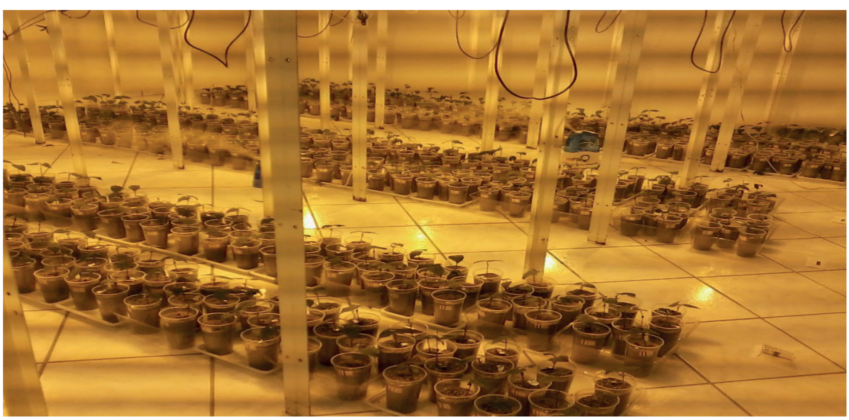


Figura 3. Imagem do experimento 1 já implantado com alguns dias de emergência com iluminação artificial e fatores climáticos controlados.

Fonte: O próprio autor. Lages, 2014.

No quinto dia após a emergência de 50% +1 das plantas, iniciou-se o processo de colheita das amostras para a verificação da presença ou ausência de nódulos, e se positivo, verificando sua coloração que indica possível presença de leghemoglobina, indicativo de fixação de N. Esse processo foi inteiramente visual com a ajuda de lupa quando necessário. Após feita a leitura, essa amostras foram descartadas. Esse processo se repetiu dia após

dia até restarem as últimas seis amostras que foram utilizadas para as análises físico químicas mencionadas anteriormente. A parte aérea foi acondicionada em sacos de papel e seca em estufa com temperatura de 60 ºC, até peso constante, para determinação da MSPA, massa seca da parte aérea, e acúmulo de N total. As raízes foram lavadas e armazenadas em sacos plásticos e congeladas para posterior contagem de nódulos. Quanto a avaliação, os mesmos foram retirados e secos em estufa para determinação da massa seca de nódulos (MSN).

As variáveis das análises físicas correspondem a contagem dos nódulos de cada raiz, das seis repetições que restaram no final do experimento, ou seja, número de nódulos por planta (NNP), massa seca de nódulos por planta (MSNP), e também a massa seca da parte aérea (MSPA). A metodologia utilizada para a determinação do nitrogênio total foi Kjeldahl (MALAVOLTA et al., 1989).

3.2 EXPERIMENTO 2

Um segundo experimento foi instalado, com o objetivo de avaliar o efeito da interação de diferentes genótipos de bactérias diazotróficas nodulantes, em acessos crioulos e comerciais de feijoeiro, com relação à precocidade de nodulação e acúmulo de N na planta, em condições de solo natural.

O experimento 2 foi realizado no Campus da UDESC, Lages, no mês de janeiro de 2015, em casa de vegetação, onde foi utilizado um solo coletado do próprio Campus descrito por (PÉRTILE 2011), como sendo um Cambissolo Húmico alítico (EMBRAPA 2006). O experimento foi conduzido em vasos com solo peneirado e misturado com 30% de areia media, num total de 3Kg de substrato, e pH corrigido com um grama de calcário Filler e com um grama de superfosfato triplo e dois gramas de cloreto de potássio por vaso, obedecendo as recomendações de adubação. Foram instalados novamente os 42 tratamentos com dez repetições cada, sendo as sete primeiras para verificação da presença de nódulos, e as três últimas colhidas após trinta e cinco dias para avaliação de número de nódulos por planta (NNP), massa seca da parte aérea (MSPA), massa seca de nódulos (MSN), e nitrogênio total absorvido (NT) e eficiência simbiótica. O processo de amostragem e avaliações, segue os mesmos procedimentos do primeiro experimento. Nesse experimento o solo não foi esterilizado mantendo suas características biológicas intactas. Foi utilizado um sistema de irrigação automático que manteve o solo devidamente umedecido durante todo o experimento. Possíveis pragas foram controladas por catação, não sendo utilizado nenhum tipo de herbicida, inseticida ou fungicida.



Figura 04. Experimento 2 instalado com 25 dias. Tratamentos separados por cores, para melhor identificação.

Fonte: O próprio autor. Lages, 2015.

RESULTADO E DISCUSSÕES

4.1 EXPERIMENTO 1

Dentre as bactérias isoladas de nódulos radiculares de feijoeiro testadas, foram escolhidas três, com características contrastantes para avaliar a formação de nódulos e fixação biológica de nitrogênio.

Bactéria	Forma	Ttransp.	Elevação	Diâmetro	Taxa Cresc.	borda	pH	Goma
B1	C	T	Cx	2	R	L	N	++
B2	C	O	Cx	3	R	I	B	++
B3	C	T	Cx	3	R	L	A	++

Tabela 3. Características morfofisiológicas dos Isolados bacterianos nodulantes em feijoeiro selecionados a partir de plantas iscas de feijão.

B* Identificação da estirpe bacteriana selecionada para o experimento. ****pH Corante azul bromotimol**

Legenda: F-Forma C-Circular P-Puntiforme I-Irregular, **Tr-Transparência** O-Opaca T-Translucida **E-Elevação** Cc Côncava Cx-Convexa Cn-Cônica A-Achatada **Dm -Diâmetro médio das colônias em mm. TX-Taxa de crescimento** R-Rápido (até três dias) L-Lento (de três a sete dias). **B-Borda** L-Lisa I- Irregular**. pH- Alteração do pH** A-Ácido B-Básico, N-Neutro, com 3 e 7 dias. **M-Produção de Goma** M+-Não produz fio M++-Produz pouco fio M+++ Produz muito muco M++++-Produz fio muito abundante a ponto de escorrer na placa.

No experimento 1 com areia e vermiculita, e condições ambientais controladas, todos os tratamentos que passaram pelo processo de inoculação nodularam, sendo que após o 5º DAE 60,61% das amostras diárias continham nódulos, após o quinto dia em que 50%+1 das amostras haviam emergido. Isso significa que 11 dias após a semeadura os tratamentos :B2(G2), B2(G5) e B2(G6) continham nódulos com sinais de leghemoglobina. Algumas plantas tiveram nódulos já bem evidentes, enquanto alguns tratamentos apresentaram nódulos de 1 a 2 mm de diâmetro e com coloração branca semelhante a raíz, enquanto que os genótipos inoculados com a bactéria B2 tiveram mais eficácia com relação a fixação a partir do quinto dia, corroborando com a massa seca e número de nódulos. O genótipo (G5), Carioca Brilhante, com ciclo de 85 dias e (G6) IAPAR 81 com 75 dias levaram vantagem em relação aos outros, provavelmente devido a especificidade entre o macro e micro simbionte. Vale ressaltar que neste experimento não houve competição por recursos e sítios de fixação, pois o substrato foi esterilizado não havendo estirpes nativas. Segundo HUNGRIA (*et al.*, 1994), o conhecimento do início da nodulação e, consequentemente, da FBN torna-se importante, pois, após a inoculação e o início da FBN, pode ocorrer deficiência de N devido à falta de sincronização entre o esgotamento das reservas de N dos cotilédones e o início da nodulação.

TRATAMENTO	Dias após emergência das plântulas					
	5	6	7	8	9	10
B1 G1						
B1 G2	+					
B1 G3		+leg				
B1 G4	+	+leg				
B1 G5	+					+leg
B1 G6	+		+leg			
B1 G7			+leg			
B2 G1	+					
B2 G2	+					
B2 G3	+leg					
B2 G4	+				+leg	
B2 G5	+	+leg				
B2 G6	+leg					
B2 G7	+leg					
B3 G1						+leg
B3 G2	+					+leg
B3 G3		+				
B3 G4	+				+leg	
B3 G5		+	+leg			
B3 G6			+			
B3 G7		+		+leg		
BC G1	+					
Tratamento	**Dias após emergência de plantas**					
	5	6	7	8	9	10
BC G2	+					
BC G3				+		
BC G4	+			+leg		
BC G5		+			+leg	
BC G6		+	+leg			
BC G7					+leg	
TCN G1	+					
TCN G2						
TCN G3					+	
TCN G4						
TCN G5						
TCN G6						
TCN G7						
TSN G1						
TSN G2						

TSN G3					+	
TSN G4						
TSN G5					+	
TSN G6					+	
TSN G7						+
Percentual %						
	60,71	21,43	7,15	3,57	3,57	3,57

Quadro 01. Tempo de início de nodulação das combinações, Isolado bactéria x Genótipo de feijão, em dias, contabilizados após a emergência e percentual da presença de nódulos.

+ . Presença de nódulo

+ leg. Presença de nódulo com sinais de leghemoglobina.

Genótipos de feijoeiro: G1- Vagem Branca, G2- IPR-88 Uirapurú, G3- México 309, G4- Rasga, G5- Carioca Brilhante, G6- IAPAR 81, G7- Preto.

Genótipos de Bactéria:B1, B2 e B3, isolados de bactérias nativas, BC, Bactéria Comercial recomendada, TCN, Controle com nitrogênio e TSN, controle absoluto.

A nodulação precoce e manutenção de nódulos efetivos durante o florescimento do feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.) podem favorecer a fixação biológica do N_2, nessa cultura (ARAÚJO, *et al* 1996)

Dos 28 tratamentos que receberam inoculante,17 apresentaram nódulos no quinto DAE. (Quadro 01). No entanto, apenas três apresentaram sinais de leghemoglobina. B2(G3), B2(G6) e B2(G7). As bactérias B1 e B2 em sua maioria nodularam precocemente em relação as outras, e com a vantagem dos nódulos estarem rosados, sendo essa característica, uma evidência de fixação sobre os outros tratamentos. Isso se deve provavelmente a especificidade que faz com que a planta sinalize, e a bactéria detecte estes sinais precocemente em relação as outras. No entanto os genótipos G1 e G2 combinados com a bactéria 1 não apresentaram nódulos até o último dia de verificação. Bactérias simbióticas nem sempre tem afinidade com vários genótipos.Mossoró (2006) observou a formação de nódulos 7 dias após a emergência, fase inicial do processo de nodulação. Ter nódulos com 5 dias é uma indicação de uma ótima interação (simbiose) entre o microssimbionte e a planta. O tratamento B2(G3) teve nodulação rosada com 5 DAE, e o tratamento B2(G4) com 9 DAE, ou seja, a mesma bactéria que nodulou com 5 DAE, com uma variedade de feijoeiro, neste caso o G3, não apresentou a mesma precocidade de nodulação com outro genótipo, (G4). Outro exemplo são os genótipos G1 e G2 citados anteriormente. Isso se deve a um possível atraso na troca de sinais com a bactéria no G4 com 9 DAE, mostrando que estas não possuem a mesma especificidade para todas as variedades da espécie de feijoeiro estudada. Os tratamentos B1(G5), B3(G1) e B3(G2), tiveram seus primeiros nódulos com dez dias após a emergência 10(DAE). O fato da bactéria B3 ter esse resultado era até esperado já que todos os tratamentos não foram significativos do ponto de vista de antecipação de nodulação. Porém a bactéria B1

teve nodulação precoce com seis dias após a emergência 6(DAE), mas com o genótipo G5 com dez dias. A antecipação foi um dos tópicos mais importantes desse trabalho e é mostrada no quadro 01 para possível comparação entre os tratamentos. No quadro 02 mais adiante constatamos diferenças discrepantes se comparadas ao experimento 1. No entanto a bactéria B1 teve um maior destaque pois teve sua nodulação antecipada em relação as outras. A seguir vimos o gráfico que mostra a relação entre genótipos de bactérias e genótipos de feijoeiro e sua massa seca.

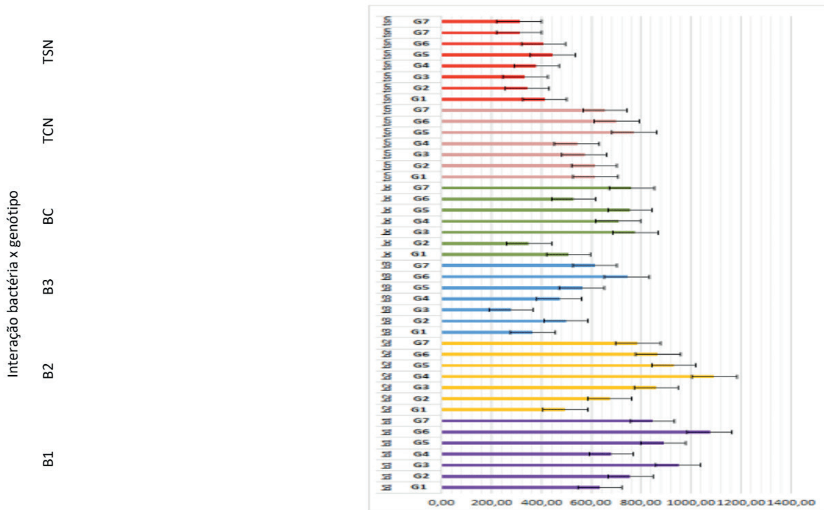


Gráfico 1. Relação entre genótipos de bactérias e genótipos de feijoeiro com relação a massa seca da parte aérea (MSPA).

LEGENDA: (MSPA) – Massa seca da parte aérea em (mg.planta^{-1}).2013.

Genótipos de feijoeiro: G1- Vagem Branca, G2- IPR-88 Uirapurú, G3- México 309, G4- Rasga, G5- Carioca Brilhante, G6- IAPAR 81, G7- Preto.

Genótipos de Bactéria:B1, B2 e B3, isolados de bactérias nativas, BC, Bactéria Comercial recomendada, TCN, Controle com nitrogênio e TSN, controle absoluto

Os resultados do gráfico 01 indicam que ouve diferença entre as combinações das bactérias e os genótipos. A bactéria B1 teve destaque, principalmente nos genótipos, G3, G5, G6 e G7. A bactéria comercial teve resultados semelhantes para o (G3, G4, G5 e G7.) Já para o restante dos outros tratamentos se mostrou com resultados inferiores. O tratamento com N,400mg ficou abaixo das bactérias B1, 800 mg e B2, 850 mg.

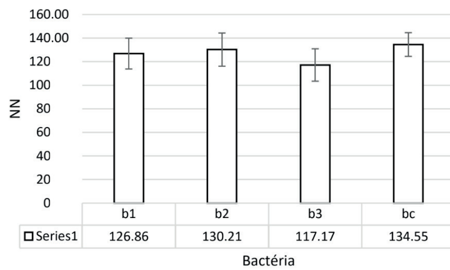


Gráfico 2. Média de número de nódulos por bactéria e controle com nitrogênio e sem nitrogênio, em feijoeiro.

NN-Número de nódulos por bactéria, Unid- Quantidade de nódulos.

Genótipos de Bactéria:B1, B2 e B3, isolados de bactérias nativas, BC, Bactéria Comercial recomendada.2014.

O fator bactéria não obteve diferença quanto a quantidade de nódulos, (Gráfico 02), pois independente da bactéria utilizada, a quantidade de nódulos obedeceu a um padrão, não mostrando diferença. Relacionando os gráficos 1 e 2 nota-se que o número de nódulos expressos no gráfico 02 não influenciou na massa seca da parte aérea do gráfico 01, pois os resultados de massa seca da parte aérea não condizem com o número de nódulos. Pressupõe -se que a quantidade de nódulos não está diretamente relacionada com a massa seca da parte aérea.

Nos estudos da FBN muita atenção tem sido dada à seleção do microssimbionte, sendo a seleção de estirpes o principal recurso para a otimização da fixação do nitrogênio. Por outro lado, a seleção de cultivares para essa finalidade não tem sido muito utilizada. (ALCANTARA, 2009).

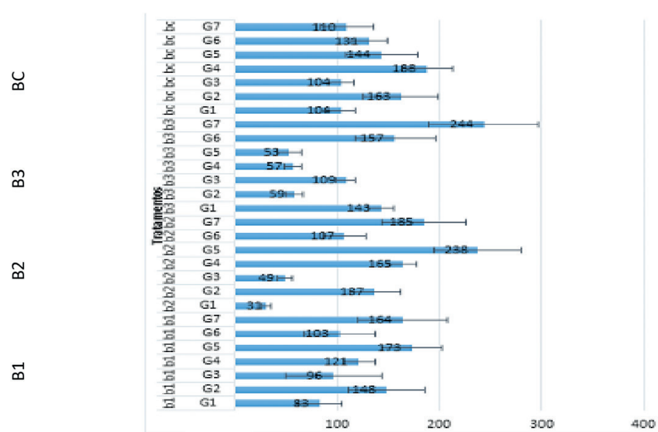


Gráfico 3. Relação entre genótipos de bactérias e genótipos de feijoeiro com relação a número de nódulos por planta (NNP).

NNP-Número de nódulos por planta, Unid- Genótipos de feijoeiro: G1- Vagem Branca, G2- IPR-88 Uirapurú, G3- México 309, G4- Rasga, G5- Carioca Brilhante, G6- IAPAR 81, G7- Preto. Genótipos de Bactéria:B1, B2 e B3, isolados de bactérias nativas, BC, Bactéria Comercial recomendada.2014.

Comparando a média de número de nódulos do gráfico 3 com a massa seca da parte aérea, gráfico 1 percebe-se que o maior número de nódulos não necessariamente influenciou na massa seca da parte aérea, visto que tratamentos com número de nódulos estatisticamente menor, tiveram aumento da massa seca , enquanto tratamentos com maior número de nódulos tiveram massa seca menor em relação aos outros, exceto o tratamento B2(G5) Carioca Brilhante, em que o número de nódulos acompanhou o rendimento da massa seca da parte aérea. De forma geral, para este experimento o número de nódulos não afetou a quantidade de massa seca da parte aérea. O mesmo acontece quando analisamos o gráfico 4 onde a massa seca de nódulos não influenciou na massa seca da parte aérea.

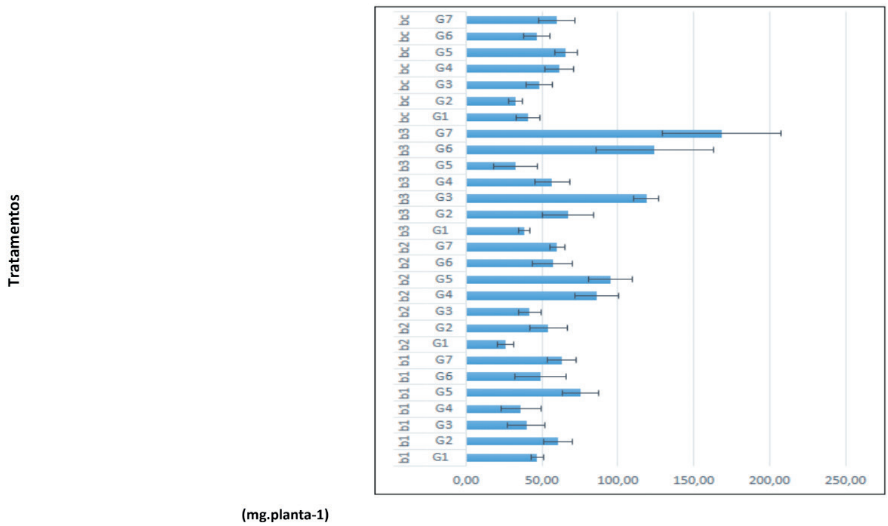


Gráfico 4. Médias de massa seca de nódulos (mg planta^{-1}), para as combinações de genótipos de bactérias e de plantas.

MSNP- Massa seca de nódulos por planta Unid- Genótipos de feijoeiro: G1- Vagem Branca, G2- IPR-88 Uirapurú, G3- México 309, G4- Rasga, G5- Carioca Brilhante, G6- IAPAR 81, G7- Preto. Genótipos de Bactéria:B1, B2 e B3, isolados de bactérias nativas, BC, Bactéria Comercial recomendada.2014.

No gráfico 04 vimos que B3(G7), B3(G6) e B3(G3) obtiveram a maior massa seca de nódulos deste experimento, porém conforme o quadro 01, os sinais de leghemoglobina apareceram com 9 (DAE) para B3(G3) e 8 dias para B3(G6), sendo que para o tratamento B3(G7) não houve sinais de leg até o 10 DAE. Isso pode indicar alta capacidade de infecção independente da efetividade da associação, uma vez que mesmo formando massa seca de nódulos considerável, e nodulando aos 5 DAE, o mesmo não teve sinais de leghemoglobina até o décimo dia de verificação. Araújo fez um estudo semelhante, onde observou diferenças significativas entre as sete cultivares de feijoeiro, no comportamento simbiótico. (ARAUJO, *et al* 1996).

Pelo fato do solo ser esterilizado neste experimento devemos desconsiderar uma

possível competição entre estirpes inoculadas e diversas estirpes nativas que podem ter contribuído para uma alta massa seca de nódulos por planta como vimos no gráfico 04. A massa seca considerável pode ser resultado de uma boa afinidade de bactérias com os genótipos de feijoeiro que quando combinadas promovem a infecção da planta e posteriormente a atividade das nodulinas começa a ser eficiente até que nos primeiros dias após a emergência notam-se estruturas circulares infestadas de bactérias comumente chamadas de rizóbios. Essas estruturas aumentam de tamanho e massa, até que se tornem visíveis a olho nu e comecem na maioria das vezes a fixar nitrogênio atmosférico como mostra o gráfico 05.

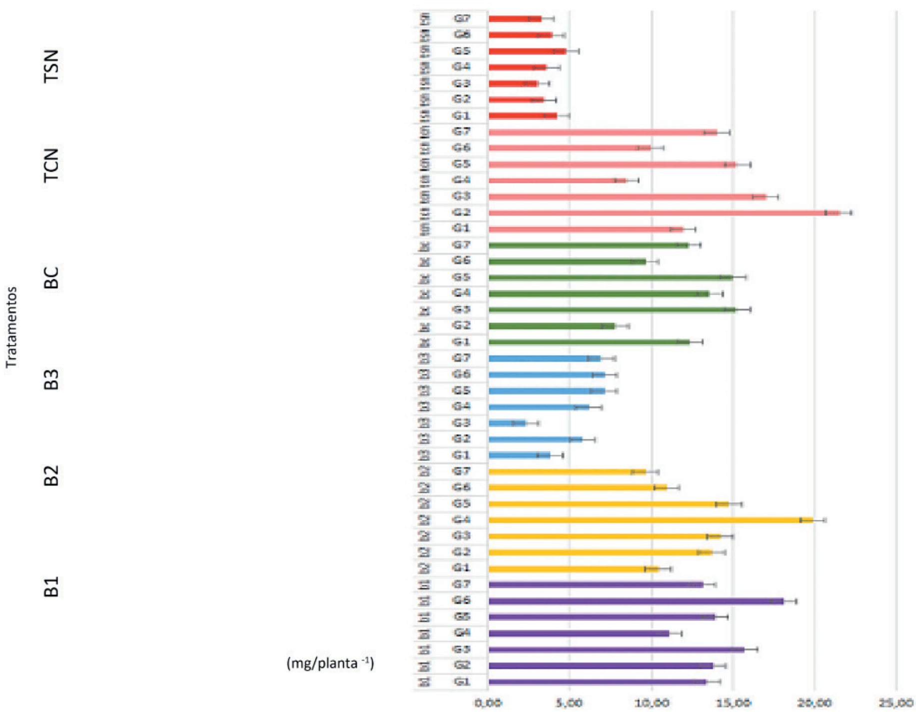


Gráfico 5. Médias de Nitrogênio acumulado (NT) em (mg.planta^{-1}), para as combinações de genótipos de bactérias e de genótipos de feijoeiro.

NNT- Nitrogênio total acumulado. (mg.planta^{-1}) Genótipos de feijoeiro: G1- Vagem Branca, G2- IPR-88 Uirapurú, G3- México 309, G4- Rasga, G5- Carioca Brilhante, G6- IAPAR 81, G7- Preto. Genótipos de Bactéria:B1, B2 e B3, isolados de bactérias nativas, BC, Bactéria Comercial recomendada.2014.

O nitrogênio acumulado é um parâmetro importantíssimo na avaliação da eficiência dos tratamentos, porém não pode ser utilizado como única informação a ser utilizada para tal. No experimento 1 o acúmulo de N na parte aérea da planta teve destaque para o tratamento com nitrogênio TCN(G2) IPR-88 Uirapurú e B2(G4) Rasga. A bactéria recomendada BC obteve resultados intermediários para os genótipos, sendo inferiores ao tratamento com B2, porém superiores a B1 e B3.

4.2 EXPERIMENTO 2

No experimento 2 a nodulação precoce também foi evidente tendo em vista que o solo não foi esterilizado e que as condições ambientais foram preservadas. O quadro 02 demonstra o tempo de nodulação de cada tratamento.

(DAE)	5	6	7	8	9
TRATAMENTO					
B1 G1				+	
B1 G2					+leg
B1 G3				+	
B1 G4	+leg				
B1 G5	+leg				
B1 G6	+leg				
B1 G7	+				
B2 G1	+				
B2 G2		+	+leg		
B2 G3					+leg
B2 G4		+leg			
B2 G5		+leg			
B2 G6				+leg	
Tratamento	**Dias após emergência de plantas**				
	5	6	7	8	9
B2 G7	+				
B3 G1		+			
B3 G2		+			
B3 G3		+			
B3 G4	+			+leg	
B3 G5	+				
B3 G6		+		+leg	
B3 G7	+				
BC G1		+	+leg		
BC G2					+
BC G3				+leg	
BC G4	+				
BC G5	+leg				
BC G6			+		
BC G7		+			
TCN G1					+
TCN G2				+	
TCN G3	+				
TCN G4		+			

TCN G5	+				
TCN G6		+			
TCN G7	+				
TSN G1		+			
TSN G2					+
TSN G3		+			
TSN G4	+				
TSN G5					+
TSN G6	+				
TSN G7	+				
Percentual %	40,47	30,95	2,38	11,91	14,29

Quadro 2. Contagem do tempo de início de nodulação por tratamento, com ou sem a presença de leghemoglobina, Bactéria x Genótipo de feijão, em dias, contabilizados após a emergência (DAE) e percentual da presença de nódulos do experimento 2

\+ . Presença de nódulo

\+ leg. Presença de nódulo com sinais de leghemoglobina.

Genótipos de feijoeiro: G1- Vagem Branca, G2- IPR-88 Uirapurú, G3- México 309, G4- Rasga, G5- Carioca Brilhante, G6- IAPAR 81, G7- Preto.

Genótipos de Bactéria:B1, B2 e B3, isolados de bactérias nativas, BC, Bactéria Comercial recomendada, TCN, Controle com nitrogênio e TSN, controle absoluto.

Verificou-se grande quantidade de tratamentos com formação de nódulos precocemente. No entanto poucos tratamentos, B1(G4), B1(G5), B1(G6) e BC(G5), apresentaram nódulos na cor rosa no 5 (DAE). Pela primeira vez a estirpe comercial aparece nodulando precocemente junto com as nativas. A bactéria B3 foi a que menos formou nodulação rosada nos primeiros dias (DAE),aparecendo somente no oitavo dia após a emergência 8(DAE) se comparado a B1 e B2, fato que já foi observado no experimento 1. Características morfofisiológicas como: acidificação do meio foi observada na bactéria B3.A estirpe comercial ainda aprece no sétimo e oitavo dia com os genótipos G1 e G3 respectivamente. A bactéria B1 apesar de nodular precocemente nos genótipos citados anteriormente conseguiu nodulação rosada somente com nove dias após a emergência 9(DAE) com o genótipo G2. Os tratamentos que tiveram nodulação precoce e rosada podem ter uma alta especificidade com a planta, obtendo maior êxito na antecipação e posteriormente na fixação de nitrogênio.

A antecipação da nodulação das plantas de feijoeiro que não foram inoculadas nem receberam aplicação de N mineral, quadro 02 (testemunha absoluta) foi similar à dos demais tratamentos no segundo experimento evidenciando a existência de elevada população nativa de rizóbios do feijoeiro no experimento 2. No entanto essas estirpes não apresentaram sinais de leghemoglobina nos dois experimentos, pelo menos até o último dia de verificação, 10(DAE) e 9(DAE), respectivamente, podendo ser explicado

pelo baixo número de células, ou pela baixa especificidade com a planta hospedeira. Isso pode demonstrar que não é a quantidade de nódulos que indica presença de nitrogênio acumulado e sim a sua eficácia em acumular nitrogênio.

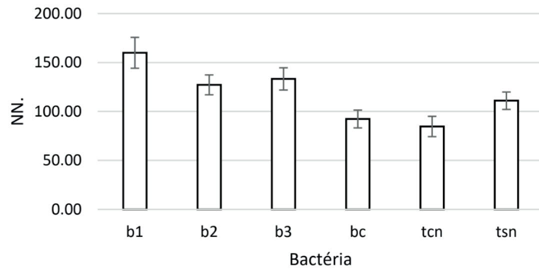


Gráfico 6. Média de número de nódulos por bactéria e controle com nitrogênio e sem nitrogênio, em feijoeiro.

NN-Número de nódulos por bactéria, Unid- Quantidade de nódulos.

Genótipos de Bactéria:B1, B2 e B3, isolados de bactérias nativas, BC, Bactéria Comercial recomendada.2014

Além dos fatores ambientais, estas interações entre as estirpes empregadas nos inoculantes, quando misturadas, e com os microrganismos do solo, incluindo os diazotróficos nativos, podem originar efeitos negativos, comprometendo a sobrevivência, o estabelecimento e as propriedades simbióticas dessas estirpes de rizóbios no campo. (HASSAN et al, 2004).

Analisando separadamente a formação de nódulos no gráfico 06, obtemos uma vantagem da bactéria B1 em relação as outras. Já o controle absoluto TSN teve número de nóduos superiores a bactéria comercial evidenciando a alta população nativa. CASTILLEJA & ROSKOSKI, (1983), em vários estudos concluiu que em condições de campo, quando se comparada nodulação de diferentes cultivares de feijão caupi por estirpes nativas, se observa uma variabilidade ainda maior do que aquela determinada em condições controladas.

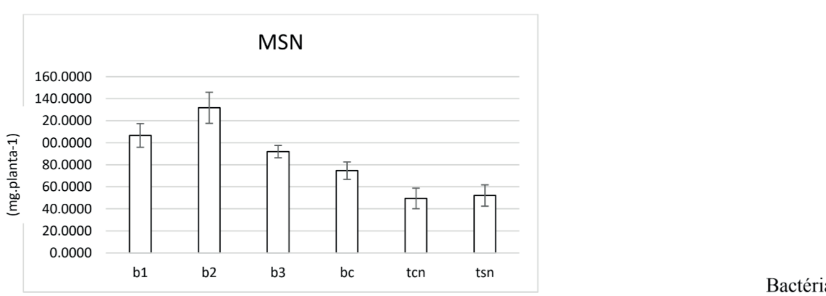


Gráfico 7. Massa seca de nódulos por tratamento em feijoeiro (mgplanta^{-1}).

MSN- Massa seca de nódulos, (mg.planta^{-1}). Genótipos de Bactéria: B1, B2 e B3, isolados de bactérias nativas, BC, Bactéria Comercial recomendada. E Tcn:Tratamento com N e Tsn: Tratamento sem N.2014.

No gráfico 07, temos destaque para a B2, que em sua média se mostrou acima das outras, independente do genótipo. Isso mostra uma certa facilidade em manter relações simbióticas com genótipos . A B1 e B3 tiveram resultados superiores a bactéria recomendada e controles. A alta especificidade entre bactérias e genótipos pode ter levado a planta a produzir ambiente propício a infecção/nodulação, promovendo sítios de fixação para obtenção de N. A adubação nitrogenada não obteve resultado na massa seca de nódulos superior nem igual aos tratamentos com bactérias nativas, gráfico 07. XAVIER, *et al* (2005), afirma que a adubação nitrogenada prejudica a nodulação e não proporciona aumentos significativos na matéria seca das plantas em comparação com a fixação biológica de N_2. Porém apesar da grande capacidade de obter N a partir da FBN, estudos mostram que a inoculação do feijão Caupi com estirpes eficientes não resultam necessariamente em aumento de rendimento, fato que se deve principalmente a baixa especificidade da bactéria com o genótipo (XAVIER apud BRITO *et al.*2011).

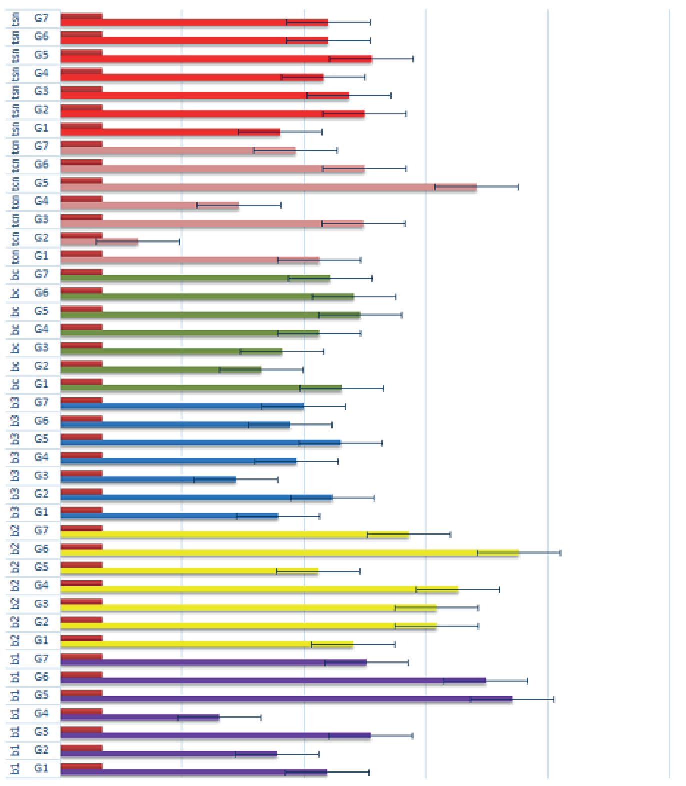


Gráfico 8. Relação da massa seca da parte aérea, entre genótipos de bactérias e genótipos de feijoeiro. (MSPA mg planta^{-1}).

MSPA-Massa seca da parte aérea (mg.planta^{-1}) Genótipos de feijoeiro: G1- Vagem Branca, G2- IPR-88 Uirapurú, G3- México 309, G4- Rasga, G5- Carioca Brilhante, G6- IAPAR 81, G7- Preto. Genótipos de Bactéria:B1, B2 e B3, isolados de bactérias nativas, BC, Bactéria Comercial recomendada.2014

A interação do gráfico 8 demonstra a bactéria B2, como simbionte quase que uniforme para os genótipos G2, IAPAR(PR) Uirapurú, com ciclo de 75 dias (G3),Goiânia CNPAF(GO) México 309, com ciclo de 70 dias, (G4), São José do Cerrito (SC), Rasga com ciclo de 85 dias, (G6), IAPAR(PR) IAPAR 81, com ciclo de 75 dias e (G7),Cunha Porã(SC),Preto com ciclo de 80 dias, oferecendo vantagem quanto a fixação, pois ciclos curtos precisam fixar N o quanto antes, pois tem pouco tempo de fixação.

A bactéria B1 teve alta afinidade com os genótipos G5, Lebon Régis (SC) Carioca Brilhante com ciclo de 85 dias e G6, IAPAR(PR) IAPAR 81, com ciclo de 75 dias, obtendo a melhor antecipação, conforme quadro 02, e maior massa seca da parte aérea, juntamente com B2(G6) conforme gráfico 08.

	G1	G2	G3	G4	G5	G6	G7
B1	4.6 aB	4.2bB	6.7 aB	3.6 bB	6.2 aB	10.3 aA	5.0 bB
B1	6.6 aA	8.3 aA	5.9 aA	9.3 aA	5.5 aA	8.1 aA	8.7 aA
B3	4.2 aA	5.5 bA	2.5 bA	5.2 bA	6.7 aA	5.0 bA	5.7 bA
BC	4.3 aA	5.5 bA	4.6 bA	4.8 bA	5.2 aA	4.8 bA	2.2 bA
TCN	4.9 aA	1.6 bB	7.0 aA	3.0 bB	6.9 aA	5.2 bA	3.6 bB
TSN	2.9 aB	4.7 bA	6.1 aA	1.3 bB	6.3 aA	1.9 bB	5.5 bA

Tabela 4. Teor de N total acumulado (mg.planta^{-1}) referente aos tratamentos com bactérias x genótipos de feijoeiro, incluindo os controles.

LEGENDA: Nas colunas em minúscula, temos os inoculantes B1,B2 e B3, Estirpes nativas, BC, inoculante comercial, TCN, Testemunha com nitrogênio, e TSN, testemunha sem nitrogênio. Nas linhas em maiúscula temos os genótipos de feijoeiro: G1- Vagem Branca, G2- IPR-88 Uirapurú, G3- México 309, G4- Rasga, G5- Carioca Brilhante, G6- IAPAR 81, G7- Preto. Médias na coluna e na linha seguidas por letras iguais não diferem entre si a 5% de probabilidade, pelo teste e Scott-Knott.

Considerando apenas o fator inoculante, todos tiveram um acúmulo de N significativo. No entanto quando a interação é considerada, a Bactéria B2(inoculante), teve o melhor resultado em quantidade de tratamentos com alto acúmulo de N ficando em primeiro lugar com todos os 7 genótipos. De forma geral, com exceção do controle sem nitrogênio, o acumulo de N no experimento 2 variou bastante. Chama-se atenção para o controle sem nitrogênio tabela 04, que teve maior acúmulo nos genótipos (G3) e (G5) evidenciando alta simbiose de bactérias nativas do substrato usado no experimento.

	G1	G2	G3	G4	G5	G6	G7
B1	103.2 aB	277.0 cA	102.5 aB	89.1 bB	108.7 aB	140.1 aB	130.6 aB
B1	113.0 aC	480.4 aA	124.2 aC	223.1 aB	62.0 aD	150.8 aC	148.4 aC
B3	84.0 aB	348.7 bA	58.0 aB	132.4 bB	67.4 aB	75.8 bB	103.9 aB
BC	108.8 aB	257.0 cA	73.2 aB	145.0 bB	72.0 aB	96.5 bB	114.9 aB
TCN	100.0 aA	100.0 dA	100.0 aA	100.0 bA	100.0 aA	100.0 bA	100.0 aA
TSN	84.9 aB	388.6 bA	95.5 aB	147.6 bB	74.8 aB	88.1 bB	114.4 aB

Tabela 5. Eficiência Simbiótica da interação bactéria X Genótipo de feijoeiro.

LEGENDA: Nas colunas em minúscula, temos os inoculantes B1, B2 e B3, Estirpes nativas, BC, inoculante comercial, TCN, Testemunha com nitrogênio, e TSN, testemunha sem nitrogênio. Nas linhas em maiúscula temos os genótipos de feijoeiro: G1-Vagem Branca, G2-IPR-88 Uirapurú, G3-México 309, G4-Rasga, G5-Carioca Brilhante, G6-IAPAR 81, G7-Preto. Médias na coluna e na linha seguidas por letras iguais não diferem entre si a 5% de probabilidade, pelo teste de Scott-Knott.

O índice de eficiência simbiótica obteve variação significativa entre os tratamentos. A interação controle sem nitrogênio com o genótipo 2 mostrou-se mais eficiente do que muitos tratamentos, como a adubação com N. (HUNGRIA,et al,(1997), relataram que a nodulação das raízes supre as necessidades das plantas, devendo-se evitar a adubação nitrogenada, pois inibe a formação dos nódulos e a fixação biológica de N.Bactérias nativas presentes no solo, certamente nodularam e fixaram mais nitrogênio nessa combinação.

A eficiência mais significativa de todas foi a interação B2 com o genótipo(G2)IPR 88Uirapuru com ciclo de 75 dias,que obteve maior eficiência comparando com os demais. Isso mostra a importância do melhoramento genético de sementes, visto que neste experimento o início denodulação influenciou diretamentena fixação de N pela planta.

HUNGRIA *et al* (2000), comparando a eficiência de novos isolados de rizóbio para o feijoeiro no estado do Paraná, juntamente com estirpes de *Rhizobium tropici*, verificaram que a inoculação proporcionou acréscimo de até 900 kg^{-1} no rendimento de grãos, em relação ao controle sem inoculação e sem adubação com N, e que a maioria dos rendimentos obtidos por meio da inoculação foi semelhante ao do controle que recebeu completa adubação nitrogenada.

Para GONZALEZ,(2008), aprocura por diversidadegenética e eficiência de fixação de nitrogênio de novas estirpes continua sendoobjeto de pesquisa.

Os fatores fisiológicos e ambientais podem afetar a nodulação,tais como acidez, componentes químicos do solo, níveis de N entre outros (STRALIOTTO,2000).

Entendemos que a atividade de nodulação está relacionada a muitos fatores. A adaptação as condições ambientais e a regulação gênica do conjunto planta bactéria exigeum conhecimento dos mecanismos genéticos envolvidos nesta resposta. Para utilizar estas informações na seleção de combinações simbióticas melhores adaptadas a diferentes regiões, é proposto queos projetos deseleção de bactérias fixadoras de N, sãodesafios das novas pesquisas.

CONCLUSÃO

De forma geral, a maioria das estirpes nativas utilizadas nesse experimento foram mais eficientes que as recomendadas quando combinadas com determinados genótipos independente das condições dos dois experimentos.

Apesar de todos os isolados utilizados neste trabalho apresentarem algumas de suas combinações com melhor acúmulo de nitrogênio em relação as demais, a bactéria B2 obteve maior número de tratamentos com essa característica.

O genótipo comercial (G2) BAF-112 IAPAR (PR) Uirapurú com ciclo de 88 dias combinado com a Bactéria B2, obteve maior eficiência simbiótica, mostrando a importância da melhoria genética empregada nesta cultivar.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AIDAR, H. Cultivo do Feijoeiro Comum: Características da cultura. **Embrapa Arroz e Feijão**, Santo Antônio de Goiás, GO, jan. 2003. Sistemas de Produção, 2. Disponível em: <http://sistemasdeproducao. cnptia.embrapa.br/>. Acesso em: 14 fev. 2016.

ALCANTARA, R. M. C. M. de; ROCHA, M. M. da; XAVIER, G. R.; RUMJANEK, N. G. **Estado atual da arte quanto à seleção e o melhoramento de genótipos para a otimização da FBN**. Teresina, PI: Embrapa Meio-Norte, ago. 2009. 34 p. (Embrapa Meio-Norte. Documentos, 196. ISSN 0104-866X).

ARAÚJO, F. F. D.; MUNHOZ, R. E.; HUNGRIA, M. Início da nodulação em sete cultivares de feijoeiro inoculadas com duas estirpes de *Rhizobium*. **Pesquisa agropecuária brasileira**, v. 31, n. 6, p. 435-443, jun. 1996.

BARBERI, A. Diversidade e eficiência de bactérias que nodulam feijoeiro de diferentes sistemas de uso da terra na Amazônia Ocidental. 2007. 121 f. Tese (Doutorado em Agronomia) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2007.

BARBOSA, F. R.; GONZAGA, A. C. de O. (Editores). **Informações técnicas para o cultivo do feijoeiro-comum na Região Central-Brasileira: 2012-2014**. Santo Antônio de Goiás, GO: Embrapa Arroz e Feijão, mai. 2012. 248 p. (Embrapa Arroz e Feijão. Documentos, 272. ISSN 1678-9644).

BERGMANN, H.; PREDDDIE, E; VERMA, D. P. Nodulin-35: A subunit of especific uricase (uricase II) induced and localized in the uninfected cells of soybean nodules. **European Molecular Biology Organization**, v. 2, n. 12, p. 2333-2339, 1983.

BHATTARAI, T.; HESS, D. Growth and yield responses of a Nepalese spring wheat cultivar to the inoculation with Nepalese *Azospirillum* spp. at various levels of N fertilization. **Biology and fertility of soils,** v. 26, n. 1, p. 72-77, 1997.

CABALLERO, S. V.; LIBARDI, P.L.; REICHARDT, K.; MATSUI, E.; VICTORIA, R. L. Utilização de fertilizante nitrogenado aplicado a uma cultura de feijão. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 20, n. 9, p. 1031-1040, 1985.

CASTILLEJA, G.; ROSKOSKI, J. P. $N_2(C_2H_4)$ fixing activity in 17 varieties of field-grown cowpea (*Vigna unguiculata* (L.) Walp). **Turrialba**, v. 33, n. 1, p. 67-71, 1983.

COMISSÃO TÉCNICA SUL-BRASILEIRA DE FEIJÃO (CTSBF). **Informações técnicas para o cultivo de feijão na Região Sul brasileira**. 2. ed. Florianópolis: Epagri, 2012. 157p.

COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO (CONAB). **Acompanhamento da safra brasileira: Grãos.** v. 1, n. 3, 3º levantamento, Safra 2013/14. Florianópolis, SC: Observatório agrícola, dez. 2013. 72 p. (Disponível também em:<http://www.conab.gov.br/OlalaCMS/uploads/arquivos/14_01_10_10_12_36_ boletim_portugues_dezembro_2013.pdf >. Publicação integrante do Observatório Agrícola 2013, ISSN 2318-6852).

COSTA, J. V. T.; JUNIOR, M.; FERREIRA, R.,; STANFORD, N.; ARAÚJO, F. Desenvolvimento de nódulos em plantas de Caupi (*Vigna unguiculata*) por métodos destrutivos e não destrutivos. **Revista Caatinga,** v. 19, n. 1, p. 11-19, 2006.

CRUSCIOL, C. A. C.; LIMA, E. D.; ANDREOTTI, M.; NAKAGAWA, J.; LEMOS, L. B.; MARUBAYASHI, O. M. Efeito do nitrogênio sobre a qualidade fisiológica, produtividade e características de sementes de feijão. R**evista Brasileira de Sementes**, v. 25, n. 1, p. 108-115, 2003.

DINELLI, G.; BONETTI, A.; MINELLI, M.; MAROTTI, I.; CATIZONE, P.; MAZZANTI, A. Content of flavonols in Italian bean (Phaseolus vulgaris L.) ecotypes. **Food Chemistry**, v. 99, n. 1, p. 105-114, 2006.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA (EMBRAPA). **Sistema Brasileiro de Classificação de Solos**. 2. ed. Brasília, DF: Centro Nacional de Pesquisa de Solos, 2006. 306 p.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA (EMBRAPA). Fixação Biológica de Nitrogênio. In: Espaço Temático. **Parque Estação Biológica – PqEB**. 2015. Disponível em: <https://www.embrapa.br/tema-fixacao-biologica-de-nitrogenio>. Acesso em 16 abr. 2016.

EMPRESA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA E EXTENSÃO RURAL DE SANTA CATARINA (EPAGRI). Tabelas de produção. In: Centro de Socieconomia e Planejamento Agrícola. **EPAGRI**. 2016. Disponível em: < http://www.epagri.sc.gov.br/?page_id=2623 >. Acesso em 24 mai. 2016.

FARIA, S. M. de; MOREIRA, J. F.; CORDEIRO, F. C.; MACHADO, R. L. **Obtenção de estirpes de rizóbio para leguminosas florestais (aproximação de 2004).** Seropédica: Embrapa Agrobiologia, 5 p. (Embrapa Agrobiologia. Comunicado técnico 61), 2003.

FERNANDES-JÚNIOR, P. I.; AIDAR, S. de T.; MORGANTE, C. V.; GAVA, C. A. T.; ZILLI, J. E.; SOUZA, L. S. B. de; MARINHO, R. de, C. N.; NÓBREGA, R. S. A.; BRASIL, M. da, S.; SEIDO, S. L.; MARTINS, L. M. V. The resurrection plant Tripogon spicatus (poaceae) harbors a diversity of plant growth promoting bacteria in northeastern brazilian caatinga. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 39, n. 4, p. 993-1002, 2015.

FERREIRA, E. P. de B.; MARTINS, L. M. V.; XAVIER, G. R.; RUMJANEK, N. G. Nodulação e produção de grãos em feijão-caupi (Vigna unguiculata L. Walp.) inoculado com isolados de rizóbio. **Revista Caatinga**, v. 24, n. 4, p. 27-35, 2011.

FRANCO, A. A; NEVES, M. C. P. Fatores limitantes à fixação biológica de nitrogênio. In: CARDOSO, E. J. B. N.; TSAI, S. M.; NEVES, M. C. P. (Eds.) **Microbiologia do Solo.** Campinas: SBCS, 1992. p. 257-282.

FREITAS, A.; VIEIRA, C.; SANTOS, C.; STAMFORD, N.; LYRA, M. Caracterização de rizóbios isolados de jacatupé cultivado em solo salino do estado de Pernambuco. **Bragantia**, v. 66, n. 3, p. 497-504, 2007.

FUSCALDI, K. C.; PRADO, G. R. Análise econômica da cultura do feijão. **Revista de Política Agrícola**, v. 14, n. 1, p. 17-30, 2005.

GONZÁLEZ, T. O. Caracterização, diversidade genética e nodulação em feijoeiro (*Phaseolus vulgaris*) de isolados de rizóbios do Brasil e da Venezuela. 2008. 72 f. Tese (Doutorado em Agronomia – Produção Vegetal) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal, 2008.

GROFFMAN, P. M.; BRUMME, R.; BUTTERBACH-BAHL, K.; DOBBIE, K. E.; MOSIER, A. R.; OJIMA, D.; PAPEN, H.; PARTON, W. J.; SMITH, K. A.; WAGNER-RIDDLE, C. Evaluating annual nitrous oxide fluxes at the ecosystem scale. **Global Biogeochemical Cycles**, v. 14, n. 4, p. 1061-1070, 2000.

HASSAN, M.; WAFAA, M. A.; DESSOUKY, A. Performance of phaseolus bean rhizobia in soils from the major production sites in the Nile Delta. **Comptes rendus biologies**, v. 327, n. 5, p. 445-453, 2004.

HUNGRIA, M.; VARGAS, M. A. T.; SUHET, A. R.; PERES, J. R. R. Fixação biológica do nitrogênio em soja. In: ARAUJO, R. S.; HUNRIA, M. (Eds.). **Microrganismos de importância agrícola**. Brasília: Embrapa-SPI, 1994. p. 9-90.

HUNGRIA, M.; VARGAS, M. A. T.; ARAUJO, R. S.; VARGAS, M. A. T.; HUNGRIA, M. Fixação biológica do nitrogênio em feijoeiro. In: VARGAS, M. A. T.; HUNGRIA, M. (Eds). **Biologia dos solos dos Cerrados**. Brasília: Embrapa Cerrado, 1997. p.187-258.

HUNGRIA, M.; ANDRADE, D. S.; CHUEIRE, L. M. O.; PROBANZA, A.; GUTIERREZ-MAÑERO, F. J.; MEGIAS, M. Isolation and characterization of new efficient and competitive bean (Phaseolus vulgaris L.) rhizobia from Brazil. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 32, n. 11, p. 1515-1528, 2000.

HUNGRIA, M.; CAMPO, R. J.; MENDES, I. Benefits of inoculation of the common bean (**Phaseolus vulgaris**) crop with efficient and competitive **Rhizobium** tropici strains. **Biology and Fertility of Soils**, v. 39, n. 2, p. 88-93, 2003.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA (IBGE). **Censo Demográfico 2010:** características da população – amostra. Rio de Janeiro, 2010. Disponível em: <http://www.ibge.gov.br>. Acesso em: 14 jun. 2016.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA (IBGE). **Censo agropecuário 2006:** agricultura familiar. Primeiros resultados. Brasil, Grandes Regiões e Unidades da Federação. Rio de Janeiro, 2006. Disponível em: <http://www.ibge.gov.br>. Acesso em: 18 jun. 2016.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA (IBGE). **Levantamento sistemático da produção agrícola: Pesquisa mensal de previsão e acompanhamento das safras agrícolas no ano civil dezembro 2013**. Rio de Janeiro, RJ: IBGE, dez. 2013. 84 p. (Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Levantamento Sistemático da Produção Agrícola. ISSN 0103-443X. v. 26, n. 12) Disponível em: <http://www.ibge.gov.br>. Acesso em: 17 jun. 2016.

KOTTEK, M.; GRIESER, J.; RUDOLF, C. B. B.; RUBEL, F. World Map of the Köppen-Geiger Climate Classification Updated. Meteorol. **Meteorologische Zeitschrift**, v. 15, n. 3, p. 259-263, 2006.

MALAVOLTA, E.; VITTI, G. C. ; OLIVEIRA, S. A. 1989. **Avaliação do Estado Nutricional das Plantas: Princípios e Aplicações**. Piracicaba: Potafos, 1998. 210 p.

MALAVOLTA, E; VITTI, G. C.; OLIVEIRA, S. A. **Avaliação do estado nutricional das plantas. Princípios e aplicações**. 2ª ed. Piracicaba: POTAFOS, 1997. 319 p.

MERCANTE, F. M.; OTSUBO, A. A.; LAMAS, F. M. Inoculação de Rhizobium tropici e aplicação de adubo nitrogenado na cultura do feijoeiro. In: REUNIÃO BRASILEIRA DE FERTILIDADE DE SOLO E NUTRIÇÃO DE PLANTAS, 27. REUNIÃO BRASILEIRA SOBRE MICORRIZAS, 11; SIMPÓSIO BRASILEIRO DE MICROBIOLOGIA DO SOLO, 9; REUNIÃO BRASILEIRA DE BIOLOGIA DO SOLO, 6. (Fertbio 2006), 2006, Bonito. **Anais...** Mato Grosso do Sul: Embrapa Agropecuária Oeste, 2006.

MESQUITA, F. R. Linhagens de feijão: composição química e digestibilidade protéica. 2005. 56 f. Dissertação (Mestrado em Ciência dos Alimentos)- Faculdade de Agronomia, Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2005.

MINISTÉRIO DA AGRICULTURA. Vegetal: Culturas. Feijão. Brasília, 2015. Disponível em <http://www.agricultura.gov.br/vegetal/culturas/feijao>. Acesso em jul de 2015.

MIRANDA, C. H.; URQUIAGA, S.; BODDEY, R. M. Selection of ecotypes of *Panicum maximum* for associated biological nitrogen fixation using the 15 N isotope dilution technique. **Soil Biology and Biochemistry,** v. 22, n. 5, p. 657-663, 1990.

MOREIRA, F. M. de S.; SIQUEIRA, J. O. **Microbiologia e Bioquímica do Solo**. 2. ed. Lavras: UFLA, 2006. 729 p.

MOREIRA, F. M. S.; SIQUEIRA, J. O. **Microbiologia e bioquímica do solo**. 2. Ed. Lavras: Editora UFLA, 2008,729 p.

MOUIN, L.; MUNIVE, A.; DREYFUS, B; BOLVIN-MASSON, C. Nodulation of legumes by members of beta sub-class of Proteobacteria. **Nature**, v. 411, n. 6840, p. 948-950, 2001.

OLIVEIRA, W. S. D.; OLIVEIRA, P. P. A.; CORSI, M.; DUARTE, F. R. S.; TSAI, S. M. Alfalfa yield and quality as function of nitrogen fertilization and symbiosis with *Sinorhizobium meliloti*. **Scientia Agricola**, v. 61, n. 4, p. 433-438, 2004.

ORTEGA A. C.; NUNES, E. M.; GODEIRO, K. F. Características e limites de uma experiência de desenvolvimento rural: o caso de Serra do Mel. **Revista Econômica do Nordeste**, v. 35, n. 4, p. 445-464, 2004.

PELEGRIN, R. de; MERCANTE, F. M.; OTSUBO, I. M. N.; OTSUBO, A. A. Resposta da cultura do feijoeiro à adubação nitrogenada e à inoculação com rizóbio. **Revista Brasileira de Ciência do solo**, v. 33, n. 1, p. 219-226, 2009.

PERES, J. R. R.; SUHET, A. R.; MENDES, I. C. VARGAS, M. A. T. Efeito da inoculação com rizóbio e da adubação nitrogenada em sete cultivares de feijão em solo de cerrado. Revista Brasileira de Ciência do Solo, v. 18, n. 3, p. 415-420, 1994.

PERES, A. R. **Co-inoculação de Rhizobium tropici e Azospirillum brasilense em feijoeiro cultivado sob duas lâminas de irrigação**: produção e qualidade fisiológica de sementes. 2014. 71 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira, Ilha Solteira, 2014.

PÉRTILE, P. **Resíduo Alcalino da Indústria de Celulose em Solos Ácidos e Área Degradada.** 2011. 106 f. Dissertação (Mestrado em Manejo de Solo) – Universidade do Estado de Santa Catarina, Lages, SC, 2011.

PORTUGAL, A. F.; JUCKSCH, I.; SCHAEFER, C. E. G.; WENDLING, B. Determinação de estoques totais de carbono e nitrogênio e suas frações em sistemas agrícolas implantados em Argissolo Vermelho-Amarelo. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 32, n. 5, p. 2091-2100, 2008.

PONTES, A.; PASSAGLIA,L. Isolamento e caracterização de bactérias promotoras de crescimento em sorgo em diferentes regiões do estado do Rio Grande do Sul. In: SALÃO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA UFRGS, 26; 2014, Porto Alegre. **Resumos...** Rio Grande do Sul: UFRGS, 2014.

RUAS. J. **Gerência de Alimentos Básicos: Superintendência de Gestão da Oferta. Feijão. Brasília, DF:** CONAB, mai. 2010. 15 p.

SALVADOR, C. A. Feijão - Análise da Conjuntura Agropecuária. Curitiba, PR: SEAB, out. 2012. 18 p. (Secretaria de Estado da Agricultura e Abastecimento (SEAB): Departamento de Economia Rural (DERAL)).

SANTA CATARINA (Estado). Secretaria de Estado de Coordenação Geral e Planejamento. **Atlas Escolar de Santa Catarina**. Rio de Janeiro: Aerofoto Cruzeiro, 1986. 173 p.

SCHRÖDER, G.; FRÜHLING, M.; PÜHLER, A.; PERLICK, A. M. The temporal and spatial transcription pattern in root nodules of Vicia faba nodulin genes encoding glycine-rich proteins. **Plant molecular biology,** v. 33, n. 1, p. 113-123, 1997.

SILVA, F. DE A. S. E.; AZEVEDO, C. A. V. DE. Principal Components Analysis in the Sofware Assistat-Statistical Attendance. In: WORD CONGRESSO N COMPUTERS IN AGRICULTURE, 7. 2009, Reno. Nevada: American Society of Agricultural and Biological Engineers, 2009.

SOARES, A. G. Consumo e qualidade nutritiva. In: REUNIÃO NACIONAL DE PESQUISA DE FEIJÃO, 5., 1996, Goiânia. **Anais...** Goiânia: UFGO, 1996. v. 2, p. 73-79.

SOARES, A. L.; FERREIRA, P. A.; ANDRADE, J. P.; HELSON MÁRIO MARTINS, H. M.; SILVA, A.; MESSIAS JOSÉ BASTOS, M. J.; MOREIRA, F. M. S. Eficiência agronômica de rizóbios selecionados e Diversidade de populações nativas nodulíferas em Perdões (MG). II–feijoeiro. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 30, n. 5, p. 803-811, 2006.

SOMASERAGAN, P.; HOBEN, H. J. **Methods in legume-*Rhizobium* tecnology.** Hawaii, 1985. 367 p.

SOUZA, A. T. DE; SILVA, C. A. F.; BRITO, F. A. DE; BOEING, G.; FILHO, J. S.; MACHADO, J. S.; SILVA, L. C. M. DA; VIEIRA, L. M.; TORESAN, L.; ZOLDAN, P.; NETO, S. B.; MARCONDES, T.; PAUL, J. M. **Síntese Anual da Agricultura de Santa Catarina**. v. 2. Florianópolis: Instituto Cepa/SC, 2014. 248 p.

STATSOFT, Inc. ver. 10. Tulsa, OK: STATISTICA, 2011.

STRALIOTTO, R.; TEIXEIRA, M.G. **A Variabilidade Genética do Feijoeiro** (*Phaseolus vulgaris* L.L)**: aplicações nos estudos das interações simbióticas e patogênicas.** Rio de Janeiro, RJ: Seropédica-Embrapa Agrobiologia, dez. 2000. 59 p. (Embrapa Agrobiologia. Documentos, 126. ISSN 1517-8498).

TEDESCO, J. M.; GIANELLO, C.; BISSANI, C. A.; BOHNEN; H. A.; VOLKWEISS, S. J. **Análise de solo, plantas e outros materiais.** Porto Alegre: UFRGS, 1995. 174p.

THOMÉ, V. M. R.; ZAMPIERI, S.; BRAGA, H. J.; PANDOLFO, C.; SILVA JUNIOR, V. P.; BACIC, I. Z.; LAUS NETO, J.; SOLDATELLI, D.; GEBLER, E. F.; DALLE ORE, J.; SUSKI, P. P. **Zoneamento agroecológico e socioeconômico do Estado de Santa Catarina**. Florianópolis: Epagri, 1999. 1 CD-ROM.

TSAI, S. M.; BONETTI, R.; AGBALA, S. M.; ROSSETTO, R. Minimizing the effect of mineral nitrogen on biological nitrogen fixation in common bean by increasing nutrient levels. **Plant and Soil**, v. 152, n. 1, p. 131-138, 1993.

VARGAS, M. A. T.; PERES, J. R. R.; SUHET, A. R. Adubação nitrogenada, inoculação e épocas de calagem para a soja em um solo sob cerrado. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 17, n. 8, p. 1127-1132, 1982.

VERMA, D. P S.; HU, C. A.; ZHANG, M. Root nodule development: origin, function andregulation of nodulin genes. **Plant Physiology**, v. 8, n. 2, p. 253-265, 1992.

VINCENT, J. M. **A manual for the pratical study of roootnodule bacteria**. Oxford: Blackwell Scientific, 1970. 164p.

XAVIER, G. R.; MARTINS, L. M. V.; RIBEIRO, J. R. de A.; RUMJANEK, N. G. Especificidade simbiótica entre rizóbios e acessos de feijão-caupi de diferentes nacionalidades. **Revista Caatinga**, v. 19, n. 1, p. 25-33, 2006.

XAVIER, T. F.; ARAÚJO, A. S. F. de; SANTOS, V. B. dos; CAMPOS, e F. L. **Efeito da adubação nitrogenada sobre a nodulação do Feijão-caupi**. In: INICIAÇÃO CIENTÍFICA NA UNIVERSIDADE ESTADUAL DO PIAUÍ, 2005, Parnaíba. **Resumos...** Piauí: UEPI, 2005. Disponível em: < http://www.cpamn.embrapa.br/anaisconac2006/resumos/MI06.pdf>. Acesso em 14 abr. 2016.

ZILIO. M.; SOUZA, C. A.; COELHO. C. M. M; MIQUELLUTI. D. J.; MICHELS, A. F. Cycle, canopy architecture and yield of common bean genotypes (Phaseolus vulgaris) in Santa Catarina State. **Acta Scientiarum. Agronomy**, v. 35, n. 1, p. 21-30, 2013.

FERNANDO JOEL TARTAS

É natural de Lages- Santa Catarina. Formado em Biologia, especializado em gestão ambiental e mestre em Ciência do solo pela Universidade de Santa Catarina UDESC. Admirador da natureza, fascinado pela ciência, sempre preocupado com os impactos antrópicos, procura através desta obra, minimizar esses impactos através de métodos de cultivo com menor uso de fertilizantes, utilizando microrganismos endêmicos que possam vir a substitui-los totalmente.

Esta árdua pesquisa de 3 anos mostra que, com vontade podemos nos superar como jamais imaginávamos. Este volume pode inspirar pessoas a tentar através da pesquisa, substituir ou aprimorar maneiras mais sustentáveis de produzir alimento utilizando recursos renováveis alinhados com a biotecnologia.



Antecipação de
nodulação na espécie *(Phaseolus vulgaris L.)*

E EFICIÊNCIA SIMBIÓTICA DE ISOLADOS DE RIZÓBIO

www.atenaeditora.com.br

contato@atenaeditora.com.br

@atenaeditora

www.facebook.com/atenaeditora.com.br

Atena Editora

Ano 2023

Antecipação de
nodulação na espécie *(Phaseolus vulgaris L.)*

E EFICIÊNCIA SIMBIÓTICA DE ISOLADOS DE RIZÓBIO

www.atenaeditora.com.br
contato@atenaeditora.com.br
@atenaeditora
www.facebook.com/atenaeditora.com.br

Atena
Editora
Ano 2023